

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-183176
(43)Date of publication of application : 03.07.2003

(51)Int.Cl.

A61K 35/84
A23L 1/30
A61K 35/72
A61K 35/74
A61K 38/44
A61K 47/14
A61K 47/16
A61K 47/24
A61P 1/04
A61P 1/16
A61P 17/00
A61P 17/06
A61P 19/02
A61P 29/00
A61P 31/04
A61P 31/12
A61P 35/00
A61P 37/04
A61P 37/08

(21)Application number : 2002-281360

(71)Applicant : WELLNESS MOVEMENT:KK
COMBI CORP
KYOWA ENGINEERING CO LTD
SUNDORY:KK
IZOSERU SA
(72)Inventor : ABE KUNI AKI
SUGA TATSUHIKO
TAKEGAWA WAGON

(22)Date of filing : 26.09.2002

(30)Priority

Priority number : 2001311336 Priority date : 09.10.2001 Priority country : JP

(54) IMMUNOPOTENTIATING COMPOSITION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an immunopotentiating composition which has effects on preventing, curing, and improving various immune diseases and infectious diseases, especially effects on improving immune function.

SOLUTION: This immunopotentiating composition contains (a) a β -glucan- containing composition containing an agaricus component and/or a Phellum yucatensis component and (b) an SOD composition containing superoxide dismutase, lipid, and protein. The composition has such good immunomodulative effects that, when the immune function of an organism is excessively reactive, it is suppressed, and when it is low, it is enhanced; therefore, the composition can be ingested for preventing, curing, and improving various immune diseases. Especially, when the immune function of an organism is low, the composition can be ingested for enhancing the immune function, thus exhibiting effects on preventing, curing, and improving neoplastic cancer, for preventing its relapse and metastasis, and for preventing infectious diseases.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 17.06.2004
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of extinction of right]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] (a) The immunity activation constituent characterized by containing beta-glucan inclusion containing an agaricus component and/or the Phellinus Linteus component, and the SOD constituent containing (b) superoxide dismutase, a lipid, and protein as an active principle.

[Claim 2] The immunity activation constituent according to claim 1 which contains a SOD constituent (b) in the range of the 5 – 100 weight section to the beta-glucan (inclusion a) 100 weight section.

[Claim 3] The immunity activation constituent according to claim 1 or 2 which is chosen from the group which beta-glucan inclusion (a) becomes from an agaricus (a-1) component and/or the Phellinus Linteus component, the Ganoderma (a-2) component and a maitake-mushrooms component, a baker's yeast component, a lactic-acid-bacteria component, a HANABIRATAKE component, and the Hericium erinaceum component and which contains a kind at least.

[Claim 4] The immunity activation constituent according to claim 3 which contains the above (a-2) in the range of the 5 – 100 weight section to the 100 above-mentioned (a-1) weight sections.

[Claim 5] The immunity activation constituent according to claim 1 to 4 whose superoxide dismutase in a SOD constituent (b) is superoxide dismutase extracted from the animals or vegetation other than Homo sapiens.

[Claim 6] claims 1–5 chosen from the group as which it is chosen out of the group which a lipid becomes from ceramide, phospholipid, thylakoid, and diacylglycerol among a SOD constituent (b) and, which protein becomes from the polymer film of a prolamin and the prolamin base -- an immunity activation constituent given in either.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to an immunity activation constituent. In detail, when the ingestion of this invention is carried out as food, it relates to the immunity activation constituent containing beta-glucan inclusion and a SOD (superoxide dismutase) content constituent which has the immunity functional adjustment effectiveness.

[0002]

[Background of the Invention] A living body's immunization is an operation which defends self from the living body attack by the self-origin cell which produced abnormalities, such as a virus which invaded in the living body, and bacteria, a cancer cell, from the exterior. However, when the condition of attacking a self-cell if immunization becomes superfluous is caused and immunization fails, defense from the above-mentioned attack becomes imperfect, and will cause aggravation of infection, growth of a cancer cell, etc. The approach of treating or preventing the disease (immunopathy) by such abnormalities of immunization is examined variously now.

[0003] Various kinds of therapies, such as a chemical therapy by excision of the focus and various chemicals and radiotherapy, are carried out to the therapy of cancer and various infectious diseases. However, when a patient's immunity force declined, or when an immunoreaction was superfluous, sufficient effectiveness may not be acquired and adjustment of the immunity force of self was desired by these therapies.

[0004] Moreover, it is known that there are some mushrooms which have antitumor action conventionally. For example, mushrooms, such as agaricus, Phellinus Linteus, an enoki mushroom, an oyster mushroom, a nameko mushroom, and matsutake, contain beta-glucan, and it is known that anticancerous may be shown. However, in use of these mushrooms, effectiveness changed greatly with intake approaches, and since the difference of effectiveness was large, the appearance of the usage of mushrooms more effective in adjustment of the immunity force was strongly searched for by the patient.

[0005] On the other hand, SOD (superoxide dismutase) is an enzyme from which the unstable active oxygen (O_2^-) produced from an oxygen molecule is removed by disproportionation, and a Cu-Zn enzyme, Mn enzyme, Fe enzymes, and such recombinant are known. For this reason, in order to remove the active oxygen produced in the living body, it is tried that a living body prescribes SOD for the patient, and makes it act on a living body from the exterior as what assists an operation of SOD which it originally has. However, since it will be decomposed before being absorbed by in the living body and demonstrating effectiveness and the great portion of effectiveness will be lost also when SOD from the outside is administered orally and SOD of which class is used, in order that SOD may be an enzyme and may use protein as a principal component, it was difficult to use SOD for the application of health food etc.

[0006] When manufacturing a SOD content physic constituent for SOD, using a lipid, protein, and an excipient as a technique which solves this problem, and the SOD content physic constituent manufactured by doing in this way are used for the patent reference 1, it is indicated that effectiveness is higher than the case where SOD is used independently. By the way, if much effectiveness is expected and many components are mixed when manufacturing the drugs for internal use or functional food which was with the crude drug etc., depending on the component and compounding ratio, the effectiveness of a crude drug may be negated by antagonism, and the effectiveness to expect may not be acquired. For this reason, an appearance of the food constituent which can be eaten safely was desired, without decreasing the crude drug effectiveness of the mushrooms to expect.

[0007] Mushrooms are stabilized further, it can discover the outstanding immunity force adjustment effectiveness which it originally has, and this applicant came to complete a header and this invention for excelling in the improvement effectiveness at the time of an immunity force fall especially, when the constituent containing specific beta-glucan inclusion (mushrooms) and a specific specific SOD constituent takes in as food, as a result of inquiring wholeheartedly in view of such a situation.

[0008]

[Patent reference 1] Patent Publication Heisei No. 511944 [ten to] official report [0009]

[Objects of the Invention] This invention aims at offering the immunity activation constituent which has the

improvement effectiveness in the immunity force at the time of an immunity force fall, when an ingestion is especially carried out as food, offering the immunity activation constituent which has the immunity functional adjustment effectiveness, and.

[0010]

[Summary of the Invention] The immunity activation constituent of this invention is characterized by containing beta-glucan inclusion containing (a) agaricus component and/or the Phellinus Linteus component, and the SOD constituent containing (b) superoxide dismutase, a lipid, and protein.

[0011] It is also desirable to contain a SOD constituent (b) in the range of the 5 – 100 weight section to the beta-glucan (inclusion a) 100 weight section in such an immunity activation constituent of this invention. Moreover, the thing for which beta-glucan inclusion (a) is chosen from the group which consists of an agaricus (a-1) component and/or the Phellinus Linteus component, the Ganoderma (a-2) component and a maitake-mushrooms component, a baker's yeast component, a lactic-acid-bacteria component, a HANABIRATAKE component, and a Hericium erinaceum component in such an immunity activation constituent of this invention and which contain a kind at least is also desirable. Here, it is also desirable to contain (a-2) in the range of the 5 – 100 weight section to the 100 (a-1) weight sections.

[0012] Furthermore, it is desirable that it is also superoxide dismutase which the superoxide dismutase in a SOD constituent (b) extracted from the animals or vegetation other than Homo sapiens at such an immunity activation constituent of this invention, and being chosen out of the group as which it is chosen out of the group which it becomes from ceramide, phospholipid, thylakoid, and diacylglycerol and which protein becomes from the polymer film of a prolamin and the prolamin base also has a desirable lipid among a SOD constituent (b).

[0013]

[Detailed Description of the Invention] Hereafter, this invention is explained concretely. The immunity activation constituent of this invention contains beta-glucan inclusion containing (a) agaricus component and/or the Phellinus Linteus component, and the SOD constituent containing (b) superoxide dismutase, a lipid, and protein.

[0014] As an agaricus component which can be used as a component of beta-glucan inclusion (a) contained in the immunity activation constituent of beta-glucan inclusion (a) this invention, the fruit body, the mycelium, fruit body extract, and mycelium extract of agaricus may be mentioned, these may be used by kind independent, or two or more sorts may be combined and they may be used.

[0015] When agaricus components are a fruit body and/or a mycelium, what dried and ground agaricus suitably is mentioned. moreover, when agaricus components are a fruit body extract and/or a mycelium extract It is what extracts and is obtained from the fruit body and mycelium of agaricus. That what is necessary is just a thing containing beta-glucan Remaining as it is or desiccation, Each of solvent extraction objects, such as an extract by the water or hot water of the fruit body of agaricus which pretreated grinding etc., or a mycelium, alcohol, and a hexane, things which processed these with the enzyme etc., fractions obtained from these is used preferably.

[0016] In this invention, the fruit body of agaricus and/or the hot water extract of a mycelium, or the fraction that carried out fractionation of this is especially used preferably as an agaricus component. Fractionation can perform precipitate by the gel filtration, alcohol, or the ammonium sulfate, dialysis, centrifugal separation, etc. with the conventional method used for proteinic fractionation, from the macromolecule fraction of beta-glucan, it can be isolated preparatively suitably and a low-molecular fraction can be used for it.

[0017] As agaricus, although each of Agaricus Blazei Murill, mushrooms, etc. can be used, it is desirable especially to use Agaricus Blazei Murill from the point that the immunity functional adjustment effectiveness is high. Moreover, as a Phellinus Linteus component which can be used as a (a) component contained in the immunity activation constituent of this invention, the fruit body, the mycelium, fruit body extract, and mycelium extract of Phellinus Linteus may be mentioned, these may be used by kind independent, or two or more sorts may be combined and they may be used.

[0018] When the Phellinus Linteus components are a fruit body and/or a mycelium, what dried and ground Phellinus Linteus suitably is mentioned. moreover, when the Phellinus Linteus components are a fruit body extract and/or a mycelium extract It is what extracts and is obtained from the fruit body and mycelium of Phellinus Linteus like the agaricus extract mentioned above. That what is necessary is just a thing containing beta-glucan Remaining as it is or desiccation, Each of solvent extraction objects, such as an extract by the water or hot water of the fruit body of Phellinus Linteus which pretreated grinding etc., or a mycelium, alcohol, and a hexane, things which processed these with the enzyme etc., fractions obtained from these is used preferably.

[0019] In this invention, the fruit body of Phellinus Linteus and/or the hot water extract of a mycelium, or the fraction that carried out fractionation of this with the conventional method is especially used preferably as a Phellinus Linteus component. Although beta-glucan inclusion (a) used by this invention may be only the agaricus component and/or the Phellinus Linteus component which were mentioned above, it is more desirable that components other than the agaricus component containing beta-glucan inclusion and the Phellinus Linteus component are included further.

[0020] As beta-glucan inclusions other than an agaricus component and the Phellinus Linteus component,

components of beta-glucan inclusion origin, such as these extracts, such as Ganoderma, maitake mushrooms, baker's yeast, lactic acid bacteria, HANABIRATAKE, Hericium erinaceum, a Shimeji mushroom, and an enoki mushroom, are mentioned. Among these, mushrooms, such as Ganoderma, maitake mushrooms, HANABIRATAKE, Hericium erinaceum, a Shimeji mushroom, and an enoki mushroom, may be fruit bodies, and they may be myceliums. It is desirable that contains a kind at least in being chosen out of the group which consists of the Ganoderma component, a maitake-mushrooms component, a baker's yeast component, a lactic-acid-bacteria component, a HANABIRATAKE component, and a Hericium erinaceum component as beta-glucan inclusions an agaricus component and other than these Phellinus Linteus components.

[0021] beta-glucan inclusion (a) used by this invention An agaricus (a-1) component and/or the Phellinus Linteus component, (a-2) When [which contains a kind at least] chosen out of the group which consists of the Ganoderma component, a maitake-mushrooms component, a baker's yeast component, a lactic-acid-bacteria component, a HANABIRATAKE component, and a Hericium erinaceum component the 100 aforementioned (a-1) weight sections -- receiving -- the above (a-2) -- the 5 - 100 weight section -- it is preferably desirable 10 - 80 weight section and to contain in the range of 15 - 50 weight section more preferably.

[0022] The SOD (superoxide dismutase) constituent (b) contained in the immunity activation constituent of SOD constituent (b) this invention contains superoxide dismutase, a lipid, and protein. Although superoxide dismutase is an enzyme from which active oxygen (O_2^-) is removed by disproportionation and a Cu-Zn enzyme, Mn enzyme, Fe enzymes, and such recombinant are known, the superoxide dismutase used as a component of a SOD constituent (b) in this invention may be these any, it may be the vegetable origin, or may be the animal origin, and may be used combining two or more sorts. Especially in this invention, the superoxide dismutase extracted from the animals or vegetation other than Homo sapiens is used preferably. For example, the superoxide dismutase extracted from the melon can be used suitable for this invention.

[0023] Although any, such as the vegetable origin, the animal origin, synthetic lipids, and these derivatives, are sufficient as the lipid used as a component of a SOD constituent (b) and it is not limited especially, the lipid of the vegetable origin is desirable, the lipid chosen from the group which consists of ceramide, phospholipid, thylakoid, and diacylglycerol is used more preferably, and the ceramide of the cereals origins, such as wheat, is used especially preferably.

[0024] Moreover, although any of the vegetable origin and the animal origin are especially sufficient as the protein used as a component of a SOD constituent (b) and it is not limited, the protein of the vegetable origin is desirable, the protein of the cereals origin is more desirable and the protein chosen from the group which consists of a polymer film of a prolamin and the prolamin base is used especially preferably. Moreover, the SOD constituent used by this invention may contain suitably the still better known excipient, the diluent, the humidification agent, the stabilizer, etc. As an excipient, a lactose, grape sugar, cane sugar, a sorbitol, a mannitol, glycerol, starch, gelatin, a calcium silicate, a microcrystal-ized cellulose, a polyvinyl pyrrolidone, a cellulose, liposome, etc. are mentioned. As a diluent or a humidification agent, water, ethanol, water/ethanol, water/glycol, water/polyethylene glycol, propylene glycol, water syrup, etc. are mentioned.

[0025] When SOD, and a lipid and protein live together, SOD is protected from a digestive enzyme etc. and, as for the SOD constituent (b) used by this invention, it has SOD activity good also at the time of the absorption to the inside of the body. Although a SOD constituent (b) may be the gestalt with which the excipient etc. was mixed simply SOD, a lipid and protein, and if needed, it is more desirable that it is the gestalt with which components other than SOD cover a part of outside surface [at least] of SOD. For example, what encapsulated the constituent containing SOD, a lipid, and protein as a SOD constituent used by this invention using liposome etc. is mentioned preferably.

[0026] The immunity activation constituent of immunity activation constituent this invention contains beta-glucan inclusion (a) mentioned above and the SOD constituent (b), and they can usually carry out an ingestion as food. although such an immunity activation constituent especially of this invention is not what is limited -- the beta-glucan (inclusion a) 100 weight section -- receiving -- a SOD constituent (b) -- usually -- the 5 - 100 weight section -- it is preferably desirable 10 - 80 weight section and to carry out 15-60 weight section extent content more preferably.

[0027] Moreover, in addition to beta-glucan inclusion (a) and a SOD constituent (b), the immunity activation constituent of this invention may contain suitably components other than beta-glucan inclusion (a) and a SOD constituent (b). As components other than beta-glucan inclusion (a) and a SOD constituent (b), an excipient, a diluent, sweetners, perfume, a coloring agent, etc. are mentioned, and each component which can be used as a food raw material can be used, for example.

[0028] Especially the gestalt of the immunity activation constituent of this invention may not be limited, and may be what kind of gestalten, such as the shape of the shape of a grain, granularity, and jelly, a liquid, and a cream, and a snack. Since the immunity activation constituent of this invention contains beta-glucan inclusion (a) containing an agaricus component and/or the Phellinus Linteus component, and the SOD constituent (b) containing SOD, a lipid, and protein, when it carries out an ingestion, having used the immunity activation constituent of this invention as food, it heightens further the immunity functional adjustment

effectiveness which beta-glucan inclusion originally has, and shows the effectiveness raise the immunity function which fell especially. By blending an above-mentioned specific component and being used, the component which brings about efficacy is moderately protected from digestive enzymes, such as gastric acid, and not producing too much decomposition till the absorption to a living body and each component do not rival, but such effectiveness is considered to originate in acting complementary etc.

[0029] Since it has the good immunity functional adjustment effectiveness of improving about the case where it is controlling and falling about the case where a living body's immunity function reacts superfluously, the immunity activation constituent of this invention can be taken in for the purpose of prevention of various immune diseases, and a therapy improvement, and when a living body's immunity function is falling especially, it can be taken in in order to raise this.

[0030] With the immunity activation constituent of this invention, the infectious disease by immune diseases, such as cancers, such as a pancreatic cancer, gastric cancer, colon cancer, rectal cancer, lung cancer, endometrium cancer, a cervical carcinoma, a lymphoma, and leukemia, a gastric ulcer, hepatitis, a collagen disease, rheumatoid arthritis, psoriasis, pollinosis, and atopic dermatitis, bacteria, or the virus etc. is mentioned as a disease it is expected that the effectiveness of prevention, a therapy, and an improvement is. Among these [especially], the effectiveness of prevention of prevention of the cancer of neoplasm nature, a therapy, an improvement, and a recurrence and transition and the preventive effect of an infectious disease are expected.

[0031] Although especially the intake of the immunity activation constituent of this invention is not necessarily limited, as grown-up intake, per day, it is desirable for 500–10,000mg to be about 800–5,000mg preferably in the amount conversion of beta-glucan (inclusions a), and it is still more desirable [intake] to continue for a long period of time, and to take in this, for example. Such an immunity activation constituent of this invention may be independently taken in for the purpose of the therapy of various immune diseases, or prevention, and may be used together with other medical therapies.

[0032]

[Effect of the Invention] According to this invention, when it takes in as food, the immunity activation constituent which has the effectiveness of prevention of various immune diseases and an infectious disease, a therapy, and an improvement, especially the effectiveness of raising the lowered immunity function can be offered. Since the immunity activation constituent of this invention has the good immunity functional adjustment effectiveness of improving about the case where it is controlling and falling about the case where a living body's immunity function reacts superfluously, It can take in for the purpose of prevention of various immune diseases, and a therapy improvement, when a living body's immunity function is falling especially, it can take in in order to raise this, and it is effective for prevention of prevention of the cancer of neoplasm nature, a therapy, an improvement, and a recurrence and transition, and prevention of an infectious disease.

[0033]

[Example] Hereafter, although this invention is explained still more concretely based on an example, this invention is not limited to these examples. In addition, in an example and the example of a comparison, the breeding approach and the measurement / evaluation approach are as follows.

Breeding of the <breeding approach> mouse was performed on condition that the following.

– Breeding equipment rack : Safety clean lack (ATCL-IPNH and Japanese Clare, Inc.)

Cage : cage made from a polycarbonate (CL-0104-1 and Japanese Clare, Inc.)

Cage lid: The cage lid made from stainless steel (CL-0104-1 and Japanese Clare, Inc.)

Water cup : water cup made from a polycarbonate (CL-0904 and Japanese Clare, Inc.)

– Feed : Powder feed CRF-1 (Oriental Yeast Co., Ltd.)

Potable water : – 121 degrees C, The autoclave-sterilization finishing tap water for 15 minutes, and a breeding environmental breeding location: SPF animal ***** : 23 **2-degree-C humidity : 55**15% ventilation : 15 times [/] hour lighting time amount : about 8 per evaluation 1 group of 8:00–20:00 <measurement / evaluation approach> survival rate, or six mice Meth A Followup for six weeks was performed after fiber meat tumor cell inoculation, prescribing each examined substance for the patient, and the rate of the population which survived during the followup to the total per group was made into the survival rate.

The magnitude of the neoplasm in which tumor growth carried out evaluation take was measured by the micrometer day by day [2], the volume of a neoplasm was estimated with the measured major-axis x minor-axis x width of face (mm³), and the average of each group estimated.

NK activity, CTL activity, and FCM analysis Meth A Ten days after fiber meat tumor cell inoculation, three mice per group were slaughtered and neoplasm inoculation part opposite side regional lymph node and spleens were collected.

1) From the spleen which carried out NK activity recovery, the lymphocyte was prepared and mixed culture was performed by using as a target cell Yac1 cell which carried out the indicator of the 51Cr. The emitted amount of 51Cr(s) was measured with the liquid scintillation counter, NK activity was searched for by the degree type, and it expressed with the average of each group.

[0034]

[Equation 1]

$$\text{Lysis (\%)} = \frac{(\text{実験}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)})}{(\text{最大}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)})} \times 100$$

[0035] 2) Meth which prepared the lymphocyte and carried out the indicator of the 51Cr from the spleen which carried out CTL activity recovery Mixed culture was performed by using an A cell as a target cell. The emitted amount of 51Cr(s) was measured with the liquid scintillation counter, CTL activity was searched for by the degree type, and it expressed with the average of each group.

[0036]

[Equation 2]

$$\text{Lysis (\%)} = \frac{(\text{実験}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)})}{(\text{最大}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)})} \times 100$$

[0037] 3) The lymphocyte was separated from the lymph gland which carried out flow-cytometry (FCM) analysis recovery, and the sample was prepared so that the number of cells might become 2×10^5 pieces per one sample. Each obtained sample A Cy-chrome (trade name) indicator anti-mouse CD3epsilon antibody (145-2C11:BD Pharmingen), FITC indicator anti-mouse CD4 antibody (GK1.5-harmingen), PE indicator anti-mouse CD8alpha (53-6.7-harmingen), It dyed, respectively by the PE indicator anti-mouse CD 28 (37.51-harmingen), the Biotin indicator anti-mouse CD 69 (H1.2F3-harmingen), and the FITC indicator anti-mouse TCRbeta antibody (H57-597-harmingen). Secondary dyeing of a Biotin labelled antibody was performed by Streptavidin-RED613 (GibcoBRL).

[0038] The sample dyed by each fluorescence labelled antibody was analyzed using flow cytometer EPICS XL (Beckman Coulter). Analysis in the two-dimensional analysis of a forward-scattering photodetection field (FS) and a side-way scattering photodetection field (SS) 1.5×10^4 which appears in lymphocyte ensemble fractionation About the cell of an individual, the gate is applied to CD3 positivity cell which is a T cell marker. 1. 3-color analysis was performed about the dyadic eye of the manifestation ratio of the activation cell population (CD28 molecule positivity, CD69 molecule positivity) in the manifestation ratio 2.TCR**** mold T cell of CD4 molecule in a TCR**** mold T cell, and CD8 molecule, and it expressed with the average of each group.

[0039]

[The example 1 of preparation] (Preparation of a tumor cell stock) fibrosarcoma mold tumor cell stock Meth A (BALB/c mice derived fibrosarcoma RCB0464: —) which was carrying out frozen preservation at the liquid nitrogen container Hanks-BSS which contains FBS (IRH Bioscience) and 0.2%NaCO3 (Wako Pure Chem Industries) for the Institute of Physical and Chemical Research 10% of decomplication ending In the culture medium for washing After washing centrifugally 3 times, 10% FBS, 0.2%NaCO3,100u/ml Penicillin G (GIBCO BRL), 100microg/ml streptomycin (GIBCO), RPMI-1640 (GIBCO) growth medium containing 5×10^{-5} M2- mercaptoethanol (Wako Pure Chem Industries) and 2×10^{-3} M L-glutamine (GIBCO) is used, and it is 5%CO2. It cultivated at 37 degrees C under existence.

[0040] Cultivated Meth It is an A cell to the 7 weeks old mouse of BALB/c 1×10^6 Intraperitoneal inoculation was carried out by the concentration of an individual/mouse, and cells were collected in [ascites] sterile after inoculation at the 1st week. It is the collected cell at the culture medium for washing After 3 times centrifugal washing and PRMI-1640 It is 5%CO2 at the culture medium for growth. It cultivates at 37 degrees C under existence, and is Meth A for inoculation of the specified quantity. The fiber meat tumor cell was obtained.

[0041]

[Example 1] (Administration of the agaricus solution and SOD to a juvenile cancer-bearing mouse) Oxy-KAIN (trade name; wheat gliadin inclusion melon extract Super Oxide dismutase, product made from STIMEOS) which is a SOD constituent was dissolved in the agaricus solution (Agaricus blazei Murill extract solution; "the agaricus ***** undiluted solution of consonance" (trade name)), and what carried out oxy-KAIN concentration in 3mg/ml was made into the examined substance A.

[0042] Exit administration of Nikkei of the above-mentioned examined substance A was carried out the whole time per day every [200micro / l] per mouse at the mouse (Metz and Japan SLC, Inc.) of the 7-weeks old BALB/c/Cr Slc (SPF) network after quarantine / inspection. Meth A for inoculation obtained in the example 1 of preparation after prescribing an examined substance A for the patient continuously for seven days The fiber meat tumor cell was inoculated into hypodermically [regions-of-back] by the concentration of 2×10^6 pieces / mouse, respectively.

[0043] In each mouse, it is Meth A. After fiber meat tumor cell inoculation carried out exit administration of Nikkei of the above-mentioned examined substance A the whole time per day every [200micro / l] per mouse. About this juvenile cancer-bearing mouse, survival rate evaluation, tumor growth evaluation, NK activity measurement, CTL activity measurement, and flow-cytometry (FCM) analysis were performed by the above-

mentioned approach, respectively. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 2 at drawing 1 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 31% and CTL activity was 39%.

[0044]

[The example 1 of a comparison] (Administration of an agaricus solution to a juvenile cancer-bearing mouse) In the example 1, everything but having used the agaricus solution (Agaricus blazei Murill extract solution; "the agaricus ***** undiluted solution of consonance" (trade name)) as an examined substance B performed measurement and evaluation of each item like the example 1 instead of using an examined substance A. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 2 at drawing 1 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 24% and CTL activity was 23%.

[0045]

[The example 2 of a comparison] (Juvenile cancer-bearing mouse) In the example 1, everything but having used PBS (0.01M phosphate buffered saline) as an examined substance C performed measurement and evaluation of each item like the example 1 instead of using an examined substance A. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 2 at drawing 1 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 22% and CTL activity was 10%.

[0046] From an example 1, the example 1 of a comparison, and the example 2 of a comparison, with a juvenile cancer-bearing mouse In the example 1 which administered an agaricus extract solution and SOD orally It compares with the example 2 of a comparison which prescribed PBS for the patient as the example 1 of a comparison which administered only the agaricus extract solution orally, and an object experiment. It turns out that a survival rate is high, the amount of tumor growth is small, and the effectiveness which controls a neoplasm is high, NK activity and CTL activity are high, and it turns out that the immunity force is improving from the increment in the activated CD8 positivity **** mold T cell being accepted.

[0047]

[Example 2] (Administration of the agaricus solution and SOD to an old age cancer-bearing mouse) In the example 1, everything but having used the mouse (Metz and Japan SLC, Inc.) of the 40-weeks old BALB/c/Cr Slc (SPF) network after quarantine / inspection performed measurement and evaluation of each item like the example 1 instead of using the mouse of the 7-weeks old BALB/c/Cr Slc (SPF) network after quarantine / inspection.

[0048] About this old age cancer-bearing mouse, survival rate evaluation, tumor growth evaluation, NK activity measurement, CTL activity measurement, and flow-cytometry (FCM) analysis were performed by the above-mentioned approach, respectively. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 4 at drawing 3 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 32% and CTL activity was 43%.

[0049]

[The example 3 of a comparison] (Administration of an agaricus solution to an old age cancer-bearing mouse) In the example 2, everything but having used the agaricus solution (Agaricus blazei Murill extract solution; "the agaricus ***** undiluted solution of consonance" (trade name)) as an examined substance B performed measurement and evaluation of each item like the example 2 instead of using an examined substance A. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 4 at drawing 3 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 23% and CTL activity was 22%.

[0050]

[The example 4 of a comparison] (Old age cancer-bearing mouse) In the example 2, everything but having used PBS as an examined substance C performed measurement and evaluation of each item like the example 2 instead of using an examined substance A. The result of tumor growth evaluation of the result of survival rate evaluation is shown in drawing 4 at drawing 3 , and the result of FCM analysis is shown in Table 1, respectively. Moreover, NK activity was 24% and CTL activity was 11%.

[0051]

[Table 1]

(リンパ球の細胞表面抗原に関する FCM 解析結果)

	CD3 階性 $\alpha\beta$ 型 T 細胞			
	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4 陽性細胞 CD28・CD69 (%)	CD8 陽性細胞 CD28・CD69 (%)
実施例 1	30.2	46.8	26.3	58.6
比較例 1	41.5	21.5	20.4	21.4
比較例 2	40.1	20.6	20.2	20.6
実施例 2	26.4	48.2	26.3	46.2
比較例 3	36.8	37.2	10.4	15.4
比較例 4	35.6	34.6	10.2	15.6

[0052] From an example 2, the example 3 of a comparison, and the example 4 of a comparison, with an old age cancer-bearing mouse In the example 2 which administered an agaricus extract solution and SOD orally It compares with the example 4 of a comparison which prescribed PBS for the patient as the example 3 of a comparison which administered only the agaricus extract solution orally, and an object experiment. It turns out that it turns out that a survival rate is high, the amount of tumor growth is small, and the effectiveness which controls a neoplasm is high, and NK activity is high, CTL activity is high, the increment in the activated CD8 positivity *** mold T cell is accepted, and the immunity force is improving.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. *** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] Drawing 1 is an example 1 and the example 1 of a comparison, and a graph that shows the result of survival rate evaluation of two.

[Drawing 2] Drawing 2 is an example 1 and the example 1 of a comparison, and a graph that shows the result of tumor growth evaluation of two.

[Drawing 3] Drawing 3 is an example 2 and the example 3 of a comparison, and a graph that shows the result of survival rate evaluation of four.

[Drawing 4] Drawing 4 is an example 2 and the example 3 of a comparison, and a graph that shows the result of tumor growth evaluation of four.

[Translation done.]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-183176

(P2003-183176A)

(43)公開日 平成15年7月3日(2003.7.3)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
A 6 1 K 35/84		A 6 1 K 35/84	A 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	Z 4 C 0 7 6
A 6 1 K 35/72		A 6 1 K 35/72	4 C 0 8 4
35/74		35/74	Z 4 C 0 8 7
38/44		47/14	4 C 0 8 8

審査請求 未請求 請求項の数 6 OL (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2002-281360(P2002-281360)
(22)出願日	平成14年9月26日(2002.9.26)
(31)優先権主張番号	特願2001-311336(P2001-311336)
(32)優先日	平成13年10月9日(2001.10.9)
(33)優先権主張国	日本 (JP)

(71)出願人	398030414 株式会社ウエルネスマーブメント 東京都港区高輪2丁目20番29号
(71)出願人	391003912 コンビ株式会社 東京都台東区元浅草2丁目6番7号
(71)出願人	300002263 協和エンジニアリング株式会社 東京都千代田区九段南一丁目6番17号
(74)代理人	100081994 弁理士 鈴木 俊一郎 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫賦活組成物

(57)【要約】

【解決手段】 本発明の免疫賦活組成物は、(a)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分を含有するβ-グルカン含有物と、(b)スーパーオキシドジスムターゼ、脂質および蛋白質を含有するSOD組成物とを含有することを特徴としている。

【効果】 本発明によれば、各種免疫性疾患および感染症の予防、治療、改善の効果、特に低下した免疫機能向上させる効果を有する免疫賦活組成物を提供することができる。本発明の免疫賦活組成物は、生体の免疫機能が過剰に反応する場合については抑制し、低下している場合については向上する、良好な免疫機能調整効果を有するため、各種免疫性疾患の予防、治療改善を目的として摂取することができ、特に、生体の免疫機能が低下している場合にこれを向上させる目的で摂取することができ、腫瘍性の癌の予防、治療、改善、再発・転移の予防、感染症の予防に効果的である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】(a) アガリクス成分および/またはメシマコブ成分を含有する β -グルカン含有物と、(b) スーパーオキシドジスマターゼ、脂質および蛋白質を含有するSOD組成物とを有効成分として含有することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項2】 β -グルカン含有物(a)100重量部に対して、SOD組成物(b)を5~100重量部の範囲で含有する、請求項1に記載の免疫賦活組成物。

【請求項3】 β -グルカン含有物(a)が、(a-1)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分と、(a-2)靈芝成分、舞茸成分、パン酵母成分、乳酸菌成分、ハナビラタケ成分およびヤマブシタケ成分よりなる群から選ばれる少なくとも一種とを含有する、請求項1または2に記載の免疫賦活組成物。

【請求項4】上記(a-1)100重量部に対して、上記(a-2)を5~100重量部の範囲で含有する、請求項3に記載の免疫賦活組成物。

【請求項5】SOD組成物(b)中のスーパーオキシドジスマターゼが、ヒト以外の動物または植物から抽出したスーパーオキシドジスマターゼである、請求項1~4のいずれかに記載の免疫賦活組成物。

【請求項6】SOD組成物(b)中、脂質が、セラミド、リン脂質、チラコイドおよびジアシルグリセロールよりなる群から選ばれ、かつ、蛋白質が、プロラミンおよびプロラミンベースのポリマー・フィルムよりなる群から選ばれる、請求項1~5いずれかに記載の免疫賦活組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の技術分野】本発明は、免疫賦活組成物に関する。詳しくは、本発明は、食品として経口摂取した場合に、 β -グルカン含有物と、SOD(スーパーオキシドジスマターゼ)含有組成物とを含む、免疫機能調整効果を有する免疫賦活組成物に関する。

【0002】

【発明の技術的背景】生体の免疫作用は、外部から生体内に侵入したウイルスや細菌、癌細胞等の異常を生じた自己由来細胞などによる生体攻撃から、自己を防御する作用である。しかしながら、免疫作用が過剰となると、自己細胞を攻撃する状態を引き起こし、また免疫作用が低下すると、上記攻撃からの防御が不完全になり、感染の悪化や、癌細胞の増殖などを引き起こすこととなる。このような、免疫作用の異常による疾患(免疫疾患)を治療もしくは予防する方法は、現在種々検討されている。

【0003】癌および各種感染症の治療には、病巣の切除、各種薬品による化学的療法、放射線療法など各種の療法が行われている。しかしながら、これらの療法によつても、患者の免疫力が低下した場合あるいは免疫反応

が過剰である場合には、充分な効果が得られないことがあり、自己の免疫力の調整が望まれていた。

【0004】また、従来、キノコ類の中には、抗腫瘍作用を有するものがあることが知られている。たとえば、アガリクス、メシマコブ、エノキタケ、ヒラタケ、ナメコ、マツタケなどのキノコ類は、 β -グルカンを含有しており、抗腫瘍性を示す場合があることが知られている。しかしながら、これらのキノコ類の使用では、摂取方法によって効果が大きく異なり、また患者によっても効果の差が大きいため、より免疫力の調整に有効な、キノコ類の使用法の出現が強く求められていた。

【0005】一方、SOD(スーパーオキシドジスマターゼ)は、酸素分子から生じる不安定な活性酸素(O_2^-)を不均化反応により除去する酵素であり、Cu-Zn酵素、Mn酵素、Fe酵素およびこれらの組換え型が知られている。このため、生体内に生じた活性酸素を除去するために、生体が本来有しているSODの作用を補助するものとして、外部から生体にSODを投与して作用させることが試みられている。しかしながら、SODは酵素であって、蛋白質を主成分とするため、外部からのSODを経口投与した場合には、いずれの種類のSODを用いた場合にも、生体内に吸収されて効果を発揮する以前に分解されて効果の大半が失われてしまうため、SODを健康食品などの用途に用いることは困難であった。

【0006】この問題を解決する技術として、特許文献1には、SODを、脂質、蛋白質および賦形剤を用いて、SOD含有医薬組成物を製造することおよび、このようにして製造されたSOD含有医薬組成物を用いた場合には、SODを単独で用いる場合よりも効果が高いことが記載されている。ところで、生薬などをもちいた経口投与用薬剤あるいは機能的食品を製造する場合に、多くの効果を期待して多くの成分を混合すると、その成分および配合比によっては、拮抗作用により生薬の効果が打ち消され、期待する効果が得られないことがある。このため、期待するキノコ類の生薬効果を減少させることなく、安全に食することができる食品組成物の出現が望まれていた。

【0007】本件出願人は、このような状況に鑑みて鋭意研究した結果、特定の β -グルカン含有物(キノコ類)と、特定のSOD組成物とを含有する組成物が、食品として摂取した場合に、キノコ類が本来有する優れた免疫力調整効果をさらに安定して発現でき、特に免疫力低下時の向上効果に優れることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

【特許文献1】特表平10-511944号公報

【0009】

【発明の目的】本発明は、免疫機能調整効果を有する免疫賦活組成物を提供すること、特に、食品として経口摂

取した場合に、免疫力低下時の免疫力向上効果を有する免疫賦活組成物を提供することを目的としている。

【0010】

【発明の概要】本発明の免疫賦活組成物は、(a)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分を含有する β -グルカン含有物と、(b)スーパー α キシドジスマターゼ、脂質および蛋白質を含有するSOD組成物とを含有することを特徴としている。

【0011】このような本発明の免疫賦活組成物では、 β -グルカン含有物(a)100重量部に対して、SOD組成物(b)を5~100重量部の範囲で含有することも好ましい。また、このような本発明の免疫賦活組成物では、 β -グルカン含有物(a)が、(a-1)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分と、(a-2)靈芝成分、舞茸成分、パン酵母成分、乳酸菌成分、ハナビラタケ成分およびヤマブシタケ成分よりなる群から選ばれる少なくとも一種とを含有することも好ましい。ここで、(a-1)100重量部に対して、(a-2)を5~100重量部の範囲で含有することも好ましい。

【0012】さらに、このような本発明の免疫賦活組成物では、SOD組成物(b)中のスーパー α キシドジスマターゼが、ヒト以外の動物または植物から抽出したスーパー α キシドジスマターゼであることも好ましく、SOD組成物(b)中、脂質が、セラミド、リン脂質、チラコイドおよびジアシルグリセロールよりなる群から選ばれ、かつ、蛋白質が、プロラミンおよびプロラミンベースのポリマーフィルムよりなる群から選ばれることも好ましい。

【0013】

【発明の具体的な説明】以下、本発明について具体的に説明する。本発明の免疫賦活組成物は、(a)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分を含有する β -グルカン含有物と、(b)スーパー α キシドジスマターゼ、脂質および蛋白質を含有するSOD組成物とを含有する。

【0014】 β -グルカン含有物(a)

本発明の免疫賦活組成物に含有される β -グルカン含有物(a)の成分として用いることができるアガリクス成分としては、アガリクス類の子実体、菌糸体、子実体抽出物および菌糸体抽出物が挙げられ、これらは一種単独で用いても、二種以上組み合わせて用いてもよい。

【0015】アガリクス成分が子実体および/または菌糸体である場合には、アガリクス類を適宜乾燥・粉碎したものが挙げられる。また、アガリクス成分が子実体抽出物および/または菌糸体抽出物である場合には、アガリクス類の子実体・菌糸体から抽出して得られるものであって、 β -グルカンを含有するものであればよく、そのままあるいは乾燥、粉碎などの前処理を施したメシマコブ類の子実体または菌糸体の、水または熱水による抽出物、アルコール、ヘキサンなどの溶剤抽出物、これらを酵素などで処理したもの、これらから得られる画分などが、いずれも好ましく用いられる。

を酵素などで処理したもの、これらから得られる画分などが、いずれも好ましく用いられる。

【0016】本発明では、アガリクス成分として、アガリクス類の子実体および/または菌糸体の热水抽出物、あるいはこれを分画した画分が特に好ましく用いられる。分画は、ゲルろ過、アルコールまたは硫酸アンモニウムによる沈殿、透析、遠心分離など、蛋白質の分画に用いられる常法により行うことができ、 β -グルカンの高分子画分から低分子画分を適宜分取して用いることができる。

【0017】アガリクス類としては、アガリクス・策划・ムリル、マッシュルームなどをいずれも用いることができるが、免疫機能調整効果が高い点から、アガリクス・策划・ムリルを用いるのが特に好ましい。また、本発明の免疫賦活組成物に含有される(a)成分として用いることができるメシマコブ成分としては、メシマコブ類の子実体、菌糸体、子実体抽出物および菌糸体抽出物が挙げられ、これらは一種単独で用いても、二種以上組み合わせて用いてもよい。

【0018】メシマコブ成分が子実体および/または菌糸体である場合には、メシマコブ類を適宜乾燥・粉碎したものが挙げられる。また、メシマコブ成分が子実体抽出物および/または菌糸体抽出物である場合には、上述したアガリクス抽出物と同様、メシマコブ類の子実体・菌糸体から抽出して得られるものであって、 β -グルカンを含有するものであればよく、そのままあるいは乾燥、粉碎などの前処理を施したメシマコブ類の子実体または菌糸体の、水または熱水による抽出物、アルコール、ヘキサンなどの溶剤抽出物、これらを酵素などで処理したもの、これらから得られる画分などが、いずれも好ましく用いられる。

【0019】本発明では、メシマコブ成分として、メシマコブ類の子実体および/または菌糸体の热水抽出物、あるいはこれを常法により分画した画分が特に好ましく用いられる。本発明で用いる β -グルカン含有物(a)は、上述したアガリクス成分および/またはメシマコブ成分のみであってもよいが、さらに、 β -グルカン含有物を含有する、アガリクス成分およびメシマコブ成分以外の成分を含むのがより好ましい。

【0020】アガリクス成分、メシマコブ成分以外の β -グルカン含有物としては、靈芝、舞茸、パン酵母、乳酸菌、ハナビラタケ、ヤマブシタケ、シメジおよびエノキダケなど、あるいはこれらの抽出物などの、 β -グルカン含有物由来の成分が挙げられる。このうち靈芝、舞茸、ハナビラタケ、ヤマブシタケ、シメジおよびエノキダケなどのキノコ類は、子実体であってもよく、菌糸体であってもよい。これらのアガリクス成分・メシマコブ成分以外の β -グルカン含有物としては、靈芝成分、舞茸成分、パン酵母成分、乳酸菌成分、ハナビラタケ成分およびヤマブシタケ成分よりなる群から選ばれる少なく

とも一種を含むのが好ましい。

【0021】本発明で用いる β -グルカン含有物(a)が、(a-1)アガリクス成分および/またはメシマコブ成分と、(a-2)靈芝成分、舞茸成分、パン酵母成分、乳酸菌成分、ハナビラタケ成分およびヤマブシタケ成分よりなる群から選ばれる少なくとも一種とを含有する場合には、前記(a-1)100重量部に対して、前記(a-2)を5~100重量部、好ましくは10~80重量部、より好ましくは15~50重量部の範囲で含有するのが望ましい。

【0022】SOD組成物(b)

本発明の免疫賦活組成物に含有されるSOD(スーパーオキシドジスムターゼ)組成物(b)は、スーパーオキシドジスムターゼ、脂質および蛋白質を含有する。スーパーオキシドジスムターゼは、活性酸素(O_2^-)を不均化反応により除去する酵素であり、Cu-Zn酵素、Mn酵素、Fe酵素およびこれらの組換え型が知られているが、本発明においてSOD組成物(b)の成分として用いられるスーパーオキシドジスムターゼは、これらのいずれであってもよく、植物起源であっても動物起源であってもよく、2種以上を組み合わせて用いてよい。本発明では、特に、ヒト以外の動物または植物から抽出したスーパーオキシドジスムターゼが好ましく用いられる。たとえば、メロンから抽出したスーパーオキシドジスムターゼは、本発明に好適に用いることができる。

【0023】SOD組成物(b)の成分として用いられる脂質は、植物由来、動物由来、合成脂質、これらの誘導体などのいずれでもよく、特に限定されるものではないが、植物由来の脂質が好ましく、セラミド、リン脂質、チラコイドおよびジアシルグリセロールよりなる群から選ばれる脂質がより好ましく用いられ、小麦などの穀類由来のセラミドが特に好ましく用いられる。

【0024】また、SOD組成物(b)の成分として用いられる蛋白質は、植物由来、動物由来のいずれでもよく特に限定されるものではないが、植物由来の蛋白質が好ましく、穀類由来の蛋白質がより好ましく、プロラミンおよびプロラミンベースのポリマーフィルムよりなる群から選ばれる蛋白質が特に好ましく用いられる。また、本発明で用いるSOD組成物は、さらに公知の賦形剤、希釈剤、加湿剤、安定剤などを適宜含有していてよい。賦形剤としては、ラクトース、ブドウ糖、ショ糖、ソルビトール、マンニトール、グリセロール、でんぶん質、ゼラチン、カルシウムケイ酸塩、微結晶化セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、リポソームなどが挙げられる。希釈剤あるいは加湿剤としては、水、エタノール、水/エタノール、水/グリコール、水/ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、水シロップなどが挙げられる。

【0025】本発明で用いるSOD組成物(b)は、SODと、脂質と蛋白質とが共存することにより、SOD

が消化酵素などから保護され、体内への吸収時にもSOD活性を良好に有している。SOD組成物(b)は、SOD、脂質および蛋白質、必要に応じて賦形剤などが、単純に混合された形態であってもよいが、SODの外表面の少なくとも一部を、SOD以外の成分が被覆する形態であるのがより好ましい。たとえば、本発明で用いるSOD組成物としては、SOD、脂質および蛋白質を含有する組成物を、リポソームなどを用いてカプセル化したものなどが好ましく挙げられる。

【0026】免疫賦活組成物

本発明の免疫賦活組成物は、上述した β -グルカン含有物(a)と、SOD組成物(b)とを含有しており、通常食品として経口摂取することができる。このような本発明の免疫賦活組成物は、特に限定されるものではないが、 β -グルカン含有物(a)100重量部に対して、SOD組成物(b)を、通常5~100重量部、好ましくは10~80重量部、より好ましくは15~60重量部程度含有するのが望ましい。

【0027】また、本発明の免疫賦活組成物は、 β -グルカン含有物(a)およびSOD組成物(b)に加えて、 β -グルカン含有物(a)およびSOD組成物(b)以外の成分を適宜含有していてよい。 β -グルカン含有物(a)およびSOD組成物(b)以外の成分としては、たとえば、賦形剤、希釈剤、甘味料、香料、着色料などが挙げられ、食品原料として使用できる成分をいずれも用いることができる。

【0028】本発明の免疫賦活組成物の形態は、特に限定されるものではなく、粒状、顆粒状、ゼリー状、液状、クリーム状、スナック状など、どのような形態であってよい。本発明の免疫賦活組成物は、アガリクス成分および/またはメシマコブ成分を含有する β -グルカン含有物(a)と、SOD、脂質および蛋白質を含有するSOD組成物(b)とを含有するため、本発明の免疫賦活組成物を食品として経口摂取した場合に、 β -グルカン含有物の本来有する免疫機能調整効果をさらに高め、特に低下した免疫機能を向上させる効果を示す。このような効果は、上述の特定成分が配合されて用いられることにより、効能をもたらす成分が、胃酸などの消化酵素から適度に保護され、生体への吸収時まで過度の分解を生じないこと、また各成分が拮抗せず、相補的に作用することなどに起因すると考えられる。

【0029】本発明の免疫賦活組成物は、生体の免疫機能が過剰に反応する場合については抑制し、低下している場合については向上する、良好な免疫機能調整効果を有するため、各種免疫性疾患の予防、治療改善を目的として摂取することができ、特に、生体の免疫機能が低下している場合にこれを向上させる目的で摂取することができる。

【0030】本発明の免疫賦活組成物により、予防、治療、改善の効果が期待される疾患としては、肺臓癌、胃

癌、大腸癌、直腸癌、肺癌、子宮体癌、子宮頸癌、リンパ腫、白血病などの癌、胃潰瘍、肝炎、膠原病、慢性関節リウマチ、乾癬、花粉症、アトピー性皮膚炎などの免疫性疾患、細菌あるいはウイルスによる感染症などが挙げられる。このうち特に、腫瘍性の癌の予防、治療、改善、再発・転移の予防の効果、感染症の予防効果が期待される。

【0031】本発明の免疫賦活組成物の摂取量は、特に限定されるわけではないが、たとえば大人の摂取量としては、1日当たりβ-グルカン含有物(a)量換算で500～10,000mg、好ましくは800～5,000mg程度であるのが望ましく、これを長期間継続して摂取するのがさらに望ましい。このような本発明の免疫賦活組成物は、各種免疫性疾患の治療または予防の目的で単独で摂取してもよく、また、その他の医学的療法と併用してもよい。

【0032】

【発明の効果】本発明によれば、食品として摂取した場合に、各種免疫性疾患および感染症の予防、治療、改善の効果、特に低下した免疫機能を向上させる効果を有する免疫賦活組成物を提供することができる。本発明の免疫賦活組成物は、生体の免疫機能が過剰に反応する場合については抑制し、低下している場合については向上する、良好な免疫機能調整効果を有するため、各種免疫性疾患の予防、治療改善を目的として摂取することができ、特に、生体の免疫機能が低下している場合にこれを向上させる目的で摂取することができ、腫瘍性の癌の予防、治療、改善、再発・転移の予防、および、感染症の予防に効果的である。

【0033】

【実施例】以下、実施例に基づいて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、実施例および比較例において、飼育方法および測定・評価方法は以下のとおりである。

<飼育方法>マウスの飼育は以下の条件で行った。

・飼育器材

ラック：セフティークリーンラック(ATCL-IPNH、日本クレア(株))

$$\text{Lysis (\%)} = \frac{|\text{実験}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|}{|\text{最大}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|} \times 100$$

【0035】2) CTL活性

回収した脾臓より、リンパ球を調製し、⁵¹Crを標識したMeth A細胞を標的細胞として混合培養を行った。放出された⁵¹Cr量を、液体シンチレーションカウンターに

$$\text{Lysis (\%)} = \frac{|\text{実験}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|}{|\text{最大}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|} \times 100$$

【0037】3) フローサイトメトリー(FCM)解析

回収したリンパ節よりリンパ球を分離し、1サンプルあ

けージ：ポリカーボネート製ケージ(CL-0104-1、日本クレア(株))

ケージ蓋：ステンレス製ケージ蓋(CL-0104-1、日本クレア(株))

給水器：ポリカーボネート製給水器(CL-0904、日本クレア(株))

・飼料：粉末飼料 CRF-1(オリエンタル酵母工業(株))

・飲料水：121℃、15分間高压蒸気滅菌済み水道水

・飼育環境

飼育場所：SPF動物舎

温度：23±2℃

湿度：55±15%

換気：15回/時間

照明時間：8:00～20:00

<測定・評価方法>

生存率の評価

1群あたり8匹もしくは6匹のマウスについて、Meth A線維肉腫細胞接種後、各被験物質を投与しながら6週間の経過観察を行い、群あたりの総数に対する経過観察中生存していた個体数の割合を生存率とした。

腫瘍増殖の評価

生着した腫瘍の大きさを、2日毎にマイクロメーターで測定し、測定した長径×短径×幅(mm³)により腫瘍の体積を概算し、各群の平均値で評価した。

NK活性、CTL活性およびFCM解析

Meth A線維肉腫細胞接種から10日後に、1群あたり3匹のマウスを屠殺し、腫瘍接種部位反対側所属リンパ節および脾臓を回収した。

30) 1) NK活性

回収した脾臓より、リンパ球を調製し、⁵¹Crを標識したYac1細胞を標的細胞として混合培養を行った。放出された⁵¹Cr量を、液体シンチレーションカウンターにて測定し、次式によりNK活性を求め、各群の平均値で表した。

【0034】

【数1】

て測定し、次式によりCTL活性を求め、各群の平均値で表した。

【0036】

【数2】

$$\text{Lysis (\%)} = \frac{|\text{実験}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|}{|\text{最大}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)} - \text{自然}^{51}\text{Cr遊離値(cpm)}|} \times 100$$

たり細胞数が2×10⁵個となるようにサンプルを調製した。得られた各サンプルを、Cy-chrome(商品名)標

識抗マウスCD3 ε 抗体(145-2C11 : BD Pharmingen)、F I T C 標識抗マウスCD4抗体 (GK1.5 : Pharmingen)、P E 標識抗マウスCD8 α (53-6.7 : Pharmingen)、P E 標識抗マウスCD28 (37.51 : Pharmingen)、Biotin標識抗マウスCD69 (H1.2F3 : Pharmingen) および F I T C 標識抗マウスTCR β 抗体 (H57-597 : Pharmingen) でそれぞれ染色した。Biotin標識抗体の二次染色は、Streptavidin-RED613 (GibcoBRL) で行った。

【0038】各蛍光標識抗体で染色したサンプルは、フローサイトメーターEPICS XL (Beckman Coulter) を用いて解析した。解析は、前方散乱光検出領域 (FS) および側方散乱光検出領域 (SS) の2次元解析によって、リンパ球集団分画に出現する 1.5×10^4 個の細胞について、T細胞マーカーであるCD3陽性細胞にゲートをかけて、

1. TCR α β型T細胞におけるCD4分子およびCD8分子の発現比率
2. TCR α β型T細胞における活性化細胞集団 (CD28分子陽性、CD69分子陽性) の発現比率の2項目について3-color解析を行って、各群の平均値を表した。

【0039】

【調製例1】(腫瘍細胞株の調製) 液体窒素容器に冷凍保存していた線維肉腫型腫瘍細胞株 Meth A (RCB0464 : BALB/c mice derived fibrosarcoma、理化学研究所) を、非動化済み 10% FBS (IRH Bioscience) および 0.2% NaCO₃ (和光純薬工業株式会社) を含有するHanks・BSS 洗浄用培地にて、3回遠心洗浄した後、10% FBS、0.2% NaCO₃、100 μg/ml Penicillin G (GIBCO BRL)、100 μg/ml streptomycin (GIBCO)、5 × 10⁻⁵ M 2-mercaptoethanol (和光純薬工業株式会社) および 2 × 10⁻³ M L-glutamine (GIBCO) を含有する RPMI-1640 (GIBCO) 増殖培地を用いて、5% CO₂ 存在下、37℃で培養を行った。

【0040】培養されたMeth A細胞を、BALB/c 7週齢マウスに、 1×10^6 個/マウスの濃度で腹腔内接種し、接種後1週間目に腹水より無菌的に細胞を回収した。回収した細胞を、洗浄用培地で3回遠心洗浄後、PRMI-1640 増殖用培地にて5% CO₂ 存在下、37℃で培養を行って、所定量の接種用Meth A 線維肉腫細胞を得た。

【0041】

【実施例1】(若齢担癌マウスへの、アガリクス溶液およびSODの投与) SOD組成物であるオキシカイン(商品名；小麦グリアジン包摂メロン抽出Super Oxide dismutase、STIMEOS製)をアガリクス溶液 (Agaricus blazei Murill 抽出溶液；「協和のアガリクス茸仙生露原液」(商品名))に溶解し、オキシカイン濃度を3 mg/m lとしたものを被験物質Aとした。

【0042】検疫・検収後の7週齢のBALB/c/Cr Slc (SPF) 系統のマウス(メス、日本エスエルシー(株))に、マウス1匹あたり上記被験物質Aを200

μl ずつ、1日1回毎日経口投与した。7日間連続して被験物質Aを投与した後、調製例1で得た接種用Meth A 線維肉腫細胞を、 2×10^6 個/マウスの濃度で、背部皮下にそれぞれ接種した。

【0043】各マウスには、Meth A 線維肉腫細胞接種後も、マウス1匹あたり上記被験物質Aを200 μl ずつ、1日1回毎日経口投与した。この若齢担癌マウスについて、上述の方法で、生存率評価、腫瘍増殖評価、NK活性測定、CTL活性測定、フローサイトメトリー(FCM) 解析をそれぞれ行った。生存率評価の結果を図1に、腫瘍増殖評価の結果を図2に、FCM解析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は31%、CTL活性は39%であった。

【0044】

【比較例1】(若齢担癌マウスへの、アガリクス溶液の投与) 実施例1において、被験物質Aを用いる代わりに、被験物質Bとしてアガリクス溶液 (Agaricus blazei Murill 抽出溶液；「協和のアガリクス茸仙生露原液」(商品名)) を用いたことの他は、実施例1と同様にし、各項目の測定および評価を行った。生存率評価の結果を図1に、腫瘍増殖評価の結果を図2に、FCM解析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は24%、CTL活性は23%であった。

【0045】

【比較例2】(若齢担癌マウス) 実施例1において、被験物質Aを用いる代わりに、被験物質CとしてPBS (0.01Mリン酸緩衝生理食塩水) を用いたことの他は、実施例1と同様にし、各項目の測定および評価を行った。生存率評価の結果を図1に、腫瘍増殖評価の結果を図2に、FCM解析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は22%、CTL活性は10%であった。

【0046】実施例1、比較例1および比較例2より、若齢担癌マウスでは、アガリクス抽出溶液とSODとを経口投与した実施例1では、アガリクス抽出溶液のみを経口投与した比較例1および対象実験としてPBSを投与した比較例2と比べて、生存率が高く、腫瘍増殖量が小さく、腫瘍を抑制する効果が高いことがわかり、NK活性およびCTL活性が高く、活性化したCD8陽性αβ型T細胞の増加が認められることより、免疫力が向上していることがわかる。

【0047】

【実施例2】(老齢担癌マウスへの、アガリクス溶液およびSODの投与) 実施例1において、検疫・検収後の7週齢のBALB/c/Cr Slc (SPF) 系統のマウスを用いる代わりに、検疫・検収後の40週齢のBALB/c/Cr Slc (SPF) 系統のマウス(メス、日本エスエルシー(株))を用いたことの他は、実施例1と同様にし、各項目の測定および評価を行った。

【0048】この老齢担癌マウスについて、上述の方法で、生存率評価、腫瘍増殖評価、NK活性測定、CTL

活性測定、フローサイトメトリー（F C M）解析をそれぞれ行った。生存率評価の結果を図3に、腫瘍増殖評価の結果を図4に、F C M解析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は32%、C T L活性は43%であった。

【0049】

【比較例3】（老齢担癌マウスへの、アガリクス溶液の投与）実施例2において、被験物質Aを用いる代わりに、被験物質Bとしてアガリクス溶液（Agaricus blazei Muriell 抽出溶液；「協和のアガリクス茸仙生露原液」（商品名））を用いたことの他は、実施例2と同様にし、各項目の測定および評価を行った。生存率評価の結果を図3に、腫瘍増殖評価の結果を図4に、F C M解

（リンパ球の細胞表面抗原に関するF C M解析結果）

	CD3陽性 $\alpha\beta$ 型T細胞			
	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4陽性細胞	CD8陽性細胞
			CD28・CD69 (%)	CD28・CD69 (%)
実施例1	30.2	46.8	26.3	58.6
比較例1	41.5	21.5	20.4	21.4
比較例2	40.1	20.6	20.2	20.6
実施例2	26.4	48.2	26.3	46.2
比較例3	36.8	37.2	10.4	15.4
比較例4	35.6	34.6	10.2	15.6

【0052】実施例2、比較例3および比較例4より、老齢担癌マウスでは、アガリクス抽出溶液とS O Dとを経口投与した実施例2では、アガリクス抽出溶液のみを経口投与した比較例3および対象実験としてP B Sを投与した比較例4と比べて、生存率が高く、腫瘍増殖量が小さく、腫瘍を抑制する効果が高いことがわかり、また、NK活性が高く、C T L活性が高く、活性化したCD8陽性 $\alpha\beta$ 型T細胞の増加が認められ、免疫力が向上していることがわかる。

析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は23%、C T L活性は22%であった。

【0050】

【比較例4】（老齢担癌マウス）実施例2において、被験物質Aを用いる代わりに、被験物質CとしてP B Sを用いたことの他は、実施例2と同様にし、各項目の測定および評価を行った。生存率評価の結果を図3に、腫瘍増殖評価の結果を図4に、F C M解析の結果を表1にそれぞれ示す。また、NK活性は24%、C T L活性は11%であった。

【0051】

【表1】

10

【図面の簡単な説明】

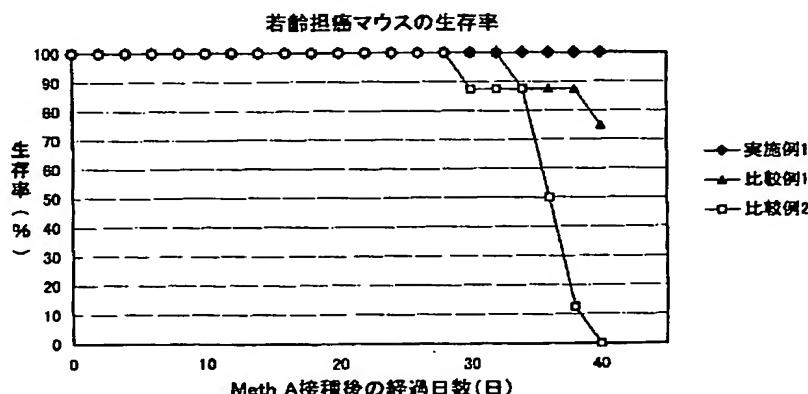
【図1】図1は、実施例1および比較例1、2の、生存率評価の結果を示すグラフである。

【図2】図2は、実施例1および比較例1、2の、腫瘍増殖評価の結果を示すグラフである。

【図3】図3は、実施例2および比較例3、4の、生存率評価の結果を示すグラフである。

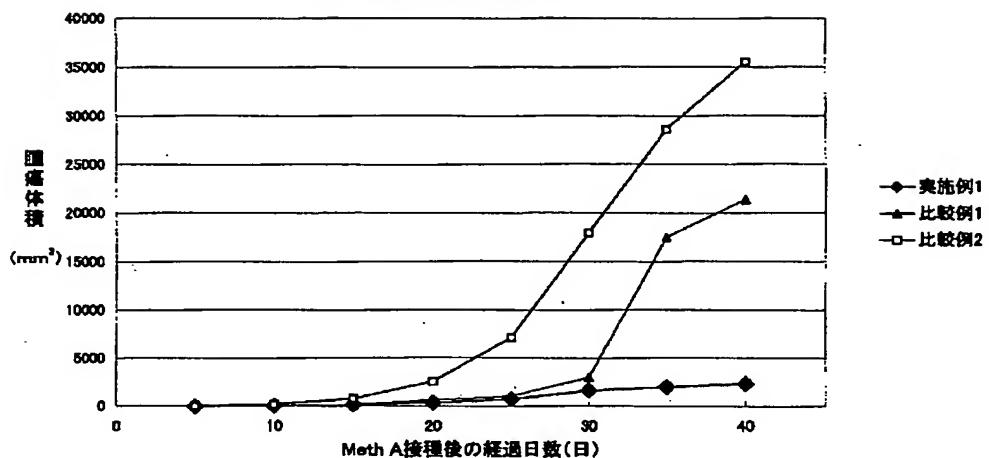
【図4】図4は、実施例2および比較例3、4の、腫瘍増殖評価の結果を示すグラフである。

【図1】

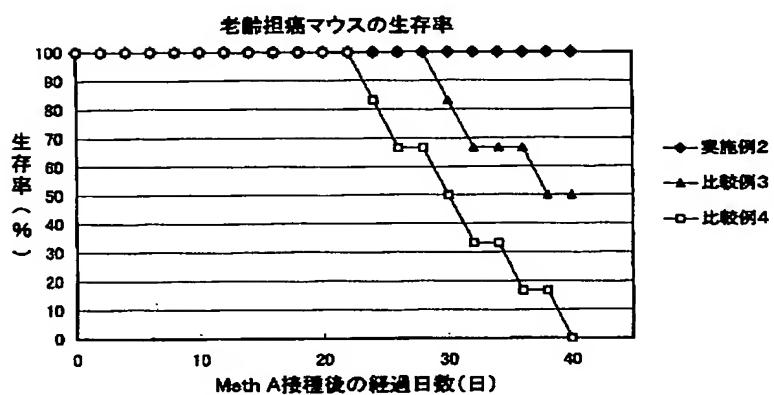


【図2】

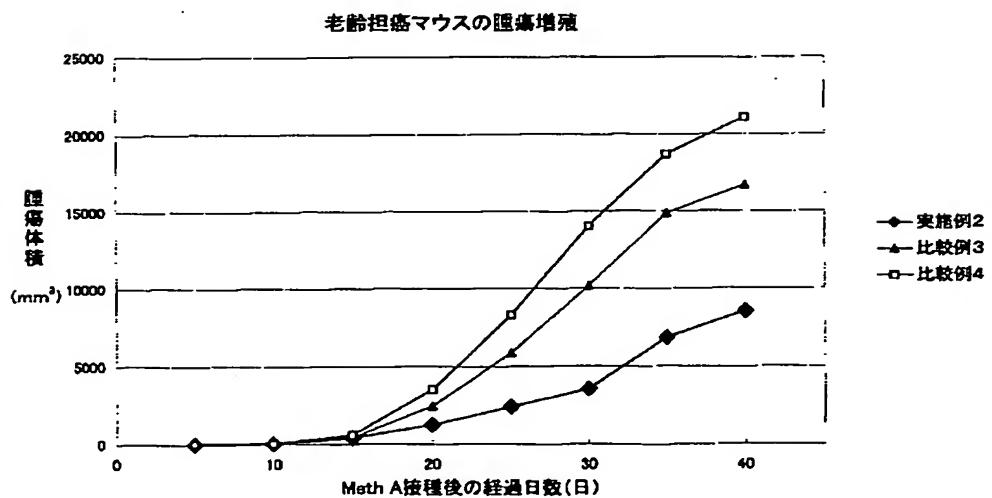
若齢担癌マウスの腫瘍増殖



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51) Int.C1. ⁷	識別記号	F I	マークコード(参考)
A 6 1 K 47/14		A 6 1 K 47/16	
47/16		47/24	
47/24		A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 1/04		1/16	
1/16		17/00	
17/00		17/06	
17/06		19/02	
19/02		29/00	1 0 1
29/00	1 0 1	31/04	
31/04		31/12	
31/12		35/00	
35/00		37/04	
37/04		37/08	
37/08		A 6 1 K 37/50	
(71) 出願人 398052759		F ターム(参考)	4B018 MD81 MD82 MD84 MD86 MD90 ME08 ME14
株式会社サンドリー		4C076 AA11 BB11 CC07 CC27 DD46 DD52 DD63 EE41 FF11 FF68	
大阪府堺市中百舌鳥町6丁964番地		4C084 AA02 BA44 CA17 DC24 MA02 MA16 NA14 ZA682 ZA752	
(71) 出願人 501393704		ZA892 ZA962 ZB092 ZB132 ZB152 ZB262 ZB332 ZB352	
イゾセル エス. アー.		ZC751	
フランス パリ 75015 ブルヴァール		4C087 AA01 AA02 BC03 BC11 BC56 CA11 CA14 MA02 MA16 MA52	
ドゥ ジェネラル マルシャル ヴァラン		NA05 ZA68 ZA75 ZA89 ZA96 ZB09 ZB13 ZB15 ZB26 ZB33	
53		ZB35 ZC75	
(72) 発明者 阿部邦昭		4C088 AA02 AA05 AA06 AC16 BA08 BA12 CA05 CA06 CA11 CA16	
東京都千代田区九段南1-6-17 千代田		MA08 MA16 MA52 NA05 ZA68 ZA75 ZA89 ZA96 ZB09 ZB13	
会館4階 協和エンジニアリング株式会社		ZB15 ZB26 ZB33 ZB35 ZC75	
内			
(72) 発明者 菅辰彦			
埼玉県さいたま市西堀5-2-39 コンビ			
株式会社バイオ研究所内			
(72) 発明者 武川和琴			
埼玉県さいたま市西堀5-2-39 コンビ			
株式会社バイオ研究所内			